

先天型筋緊張性ジストロフィー症の筋組織像と 臨床像との関連についての経時的検討

若 井 周 治

札幌医科大学小児科学教室 (主任 千葉峻三教授)

Congenital Myotonic Dystrophy: A Successive Study on the Relevancy between the Histopathology of Biopsied Skeletal Muscle and the Clinical Findings

Shuji WAKAI

Department of Pediatrics, Sapporo Medical College

(Chief: Prof. S. CHIBA)

ABSTRACT The histopathology of biopsied skeletal muscles and clinical findings were studied in 15 patients with congenital myotonic dystrophy (CMyD), and the relevancy between the former and the latter was discussed. There were remarkable variations in the severity of clinical manifestations in CMyD patients. From a clinical point of view, the severity could be divided into three broad clinical categories; severe type, mild type and juvenile type. Myotonia was gradually appeared from the age of 3 years in the majority of the patients and grip myotonia was observed in all patients over the age of 7 years. In the muscle pathology of the eight patients aged between 3 and 9 years, there was no immaturity of the fibers and the histological alterations were minimal. The muscles, however, were not entirely normal, but presented fiber size variations and abnormalities in distribution of fiber type. The pathological findings of the adult patients with CMyD resembled those of persons with adult MyD. The abnormally immature condition of the musculature, observed during the early infantile period of CMyD may improve in parallel with clinical improvement of motor development during childhood and, after that, the muscle fibers may begin to degenerate in a similar manner to that seen in adult MyD. Two patients with marked talipes equinovarus displayed group atrophy. Small angular fibers were observed in 11 and pyknotic nuclear clumps in 5. These findings suggest that some neurologic factors, including spinal cord abnormalities, might be involved in the muscular changes in CMyD.

(Received April 3, 1990 and accepted August 14, 1990)

Key words: Congenital myotonic dystrophy, Muscle biopsy, Muscle histopathology, Clinical findings

1 緒 言

筋緊張性ジストロフィー (myotonic dystrophy, 以下 MyD) は、ミオトニア (myotonia), 遠位筋を中心とした筋萎縮, 筋力低下を主症状とし, 白内障, 種々の内分泌異常, 免疫異常, 心伝導障害などを合併する多系統疾患である¹⁾. 従来より MyD は, 小児期にも発症することがありうるが, 本質的には成人の疾患とさ

れていた. しかし, 近年, 出生直後より著明な筋緊張低下 (hypotonia), 呼吸障害などを示す先天型 MyD (congenital MyD, 以下 CMyD) の存在が注目され²⁻⁵⁾, これら小児の MyD を示す患児の母親の大部分が成人型 MyD の患者であることが判明している^{1,6)}. MyD の筋組織所見については, 成人型 MyD に関する種々な記載がある^{7,8)}. また著明な hypotonia を呈する CMyD の新生児期, 乳児期における筋生検像に関する

報告も散見されている⁹⁻¹¹⁾。しかし、これら CMyD において出生直後に認められる未熟な筋組織がその後の成長、発達とともにどのような変遷をたどるか経時的に検討した報告は少ない。

今回、著者は、経過中2度筋生検を施行した3例を含む15例の CMyD の筋組織像を検索し、臨床像との関連について経時的に検討したので報告する。

2 研究対象および方法

2.1 対 象

対象は臨床症状、家族歴、筋電図 (electromyography, EMG) などの検査より CMyD と診断された15例

である。性別は男8例、女7例、年齢は4ヵ月から26歳であった。

2.2 臨床像の検討

以上の対象全例に対し、家族内罹患者の有無、母親の妊娠分娩経過、胎動の微弱の有無、生下時の状態、その後の運動発達状態、myotonia の有無、EMG 所見、知能指数、水晶体混濁の有無、生検時の creatine kinase (CK) 値および合併症について検討した。

2.3 筋 生 検

全例、前脛骨筋により筋生検を施行した。1%塩酸プロカインによる局所麻酔の後、四肢長軸にそって2~3 cm の皮膚切開を加え、皮下組織を鈍的に分けて筋膜に

Table 1a Details of the methods used in the staining of biosied muscle specimens.

<p>*ヘマトキシリン・エオジン (hematoxylin and eosin, H&E)</p>	<p>*NADH-tetrazolium reductase (DPNH diaphorase)</p>
<p>1. Harris ヘマトキシリン液 10分 2. 水洗 5~10分 3. 1%エオジン 30秒~1分 4. アルコール脱水, キシレン</p>	<p>1. 下記液内で37℃, 30分間 incubate する0.05M Tris-HCl buffer (pH 7.4) 30m/ nitro blue tetrazolium (NBT) 30mg β-NADH (β- nicotinamide adenine dinucleotide) 24 mg pH 7.4とする</p>
<p>* Gomori トリクローム変法 (modified Gomori trichrome)</p>	<p>2. 30%→60%→90%→60%→30%アセトン液に入れる</p>
<p>1. Harris ヘマトキシリン液 10分 2. 水洗 5~10分 3. Gomori 液 10~20分 (少し長めの方がよい) 4. 0.2%酢酸液内にて少し洗う 5. 脱水, キシレン 6. カナダバルサムにて封入</p>	<p>3. 水洗 4. グリセリンゼリーにて封入 5. カナダバルサムにてマウント</p>
<p>*periodic acid Schiff (PAS)</p>	<p>*酸フォスファターゼ (acid phosphatase)</p>
<p>1. Carnoy 固定液(エタノール60m/, クロロホルム30 ml, 無水酢酸10m/) で5~10分固定 2. 水洗 3. 0.5% periodic acid 5分 4. 水洗 5. Schiff 液 10~15分 6. 水洗 10分 7. 脱水, キシレン 8. 封入</p>	<p>1. 4℃に冷却した下記液内で10分間固定 veronal acetate buffer (pH5.0) 12m/ acetone 18m/ 2. 水洗 3. 下記液内で37℃, 60分間 incubate する4%sodium nitrite 0.6 m/ pararosaniline 0.6 m/ 2液をよくまぜて, しばらく室温におくこと。この液に蒸留水19.5 ml を加える。 naphtol AS-B1 phosphate 15 mg N, N-dimethyl formamide 1.5 m/ この混合液を毎回別に作成して, これも加える。 veronal acetate buffer 7.5 m/ pH 4.7~5.0 (2N NaOH で) に調整</p>
<p>*oil red O</p>	<p>4. 水洗 5. 0.3%methyl green 30秒間 (対比染色) 6. 水洗 7. グリセリンゼリーにて封入</p>
<p>1. oil red O 粉末のisopropyl alcohol 飽和液を作る。 濾過した飽和液3 に対し蒸留水2 の割合の混合液内で30分染色 2. 水洗 3. グリセリンゼリーにて封入</p>	

達した後、筋膜を切開して筋組織を露出した。Dubowitzの方法¹²⁾に従って1 cmから1.5 cmの長さの筋束の両端を結紮し、切断して取出し、光学顕微鏡組織化学用試料および電子顕微鏡用試料とした。

2.4 光顕用試料の作製、染色

採取した筋組織は-160℃の液体窒素素内で冷却したイ

ソペンタン内で急速に凍結させた。凍結した試料は-25℃~-20℃のオープントップ式クリオスタット(Brighton, England)を用いて10 μの厚さで薄切し、プレパラートに付着させた。切片はそれぞれ、表1のごとく、hematoxylin-eosin (H-E), modified Gomori-trichrome, periodic acid Schiff (PAS), oil red O,

Table 1b Details of the methods used in the staining of biopsied muscle specimens.

*アルカリフォスファターゼ (alkaline phosphatase)

1. 下記液内で37℃, 30分間 incubate する

0.2 M borate buffer 27 ml

α-naphthyl phosphate 30 mg

fast blue RR 30 mg

0.1 M magnesium sulfate 3 ml

2. 水洗 10分

3. 10%formalin 10分

4. 水洗

5. グリセリンゼリーにて封入

*非特異エステラーゼ (nonspecific esterase)

1. 下記液内で37℃, 30分間 incubate する

4 %sodium nitrite 1.2 ml

pararosaniline 液 1.2 ml

(酸フォスファターゼ染色と同じもの)

0.1M phosphate buffer 30 ml

1 %α-naphthyl acetate/acetone 0.75 ml

pH 6.5に調整

2. 水洗10分以上

3. 脱水, キシレン

4. 封入

*ATPase

ルチーン ATPase 用

0.1 M sod. barbital	4 ml
0.18 M CaCl ₂	4 ml
蒸留水	12 ml
pH 9.4	

(15分間反応)

pH 4.6用

barbital acetate 液	5 ml
0.1 M HCl	10 ml
蒸留水	8 ml
pH 4.6	

(5分間反応)

pH 4.2用

barbital acetate 液	5 ml
0.1 M HCl	10 ml
蒸留水	8 ml
pH 4.2~4.3	

(5分間反応)

0.1 M sod. barbital	4 ml
0.18 M CaCl ₂	2 ml
蒸留水	14 ml
pH 9.4~9.7	

(30秒~1分軽く洗う)

0.1 M sod. barbital	4 ml
0.18 M CaCl ₂	2 ml
蒸留水	12 ml
ATP disod. salt	50 mg
pH 9.4~9.7	

(45分反応)

1 %CaCl₂ で3回洗浄 (計10分程度)

2 %CoCl₂ で3分反応

0.01 M sod. barbital 液で8回洗浄

水洗 (2~3分)

1 ml/黄色硬化アンモニウム/100 ml/蒸留水 (1分)

水洗

脱水

封入

NADH tetrazolium reductase (NADH-TR), acid phosphatase, alkaline phosphatase, nonspecific esterase, ATPase (routine, pH4.2, pH4.6)の各染色により組織学的, 組織化学的に検索した¹³⁾.

2.5 電顕用試料の作製

生検した筋組織から最も人工産物の少ないと思われる所より細長い筋束を得, これをスライドガラスに伸展するように貼付した. このスライドガラス上の試料を2.5%グルタルアルデヒドにて30分間固定した後, 筋標本を細切し, 同様の液でさらに4℃, 2時間固定した. 次に, これらの試料を0.1Mリン酸バッファーで洗浄後, osmium tetroxideにて4℃, 2時間固定し, さらに50%, 70%, 80%, 99%, 99.5%, 100%アルコールにて順次脱水した. その後これらの試料をepoxy resinに包埋した. 包埋した試料をミクロトームを用いて約0.7~1μの厚さに薄切し, トルイジン・ブルー染色で光顕的に検索部位を決定した. その部分を実体顕微鏡下でさらに超薄切用に処理した. その後, この試料をミクロトームを用いて超薄切し, 酢酸ウラン, クエン酸鉛による二重電子染色を施行した¹⁴⁾. これらの標本をJEM 100S (日本電子)にて検鏡した.

2.6 光顕および電顕組織像の評価

評価の対象とした光顕での組織所見の例をFig. 1に示した. 光顕像に関しては, 筋線維径の大小不同(fiber size variation), 内鞘の結合組織増生(endomysial fibrosis), 筋原形質塊(sarcoplasmic mass), 筋線維の分割(fiber splitting)はH-E染色, 虫食い像(moth-eaten appearance)はNADH-TR染色, 群萎縮(group atrophy)はH-E, NADH-TRあるいはATPase染色により, それぞれの程度を, -; 所見なし, +; 軽度所見あり, ++; 中等度所見あり, +++; 高度所見あり, の四段階で評価した. 壊死(necrosis), 中心核(central nuclei), 多核集塊(pyknotic nuclear clump), 小角化線維(small angular fiber)はH-E染色など, 酸ホスファターゼ陽性部(acid phosphatase positive sites)はacid phosphatase染色, 1型線維(type 1 fiber)はATPase染色, 輪状線維(ring fiber)は電顕用epon包埋切片的トルイジン・ブルー染色によりそれぞれ, 筋線維200本中の割合を%で表示した.

ATPase染色により正確に線維径の測定を施行した8例(症例2, 3, 5, 6, 7, 8, 13, 14)で, 1型線維と2型線維の直径と割合を各々200線維について評価した.

電顕像に関しては, 筋原形質量輪(sarcoplasmic

halo), グリコーゲン蓄積(glycogen deposition), 空胞(vacuoles), 細芯管(microcore tubules)の所見は, その程度を上記の四段階で評価した. 筋衛星細胞(satellite cell)においては, 一見, 明らかに増加していた症例3について200線維中の割合を%で表示した.

3 結 果

3.1 臨床像の検討

各対象の筋生検時の年齢, 性別, 家族内罹患者, 母親の妊娠分娩の状態, 胎動の強弱の程度, 生下時の状態(新生児仮死の有無, 嚥下障害の有無, 上口唇の形, 顔面筋罹患, 尖足の有無), 頸定到達年齢, 独立歩行可能年齢, 走行の可否, myotoniaの有無, 水晶体混濁の有無, EMGの所見, 知能指数, 血清CK値(IU/l), その他の合併症をTable 2にまとめた.

筋生検時の年齢は最年少が症例1の4ヵ月, 最年長が症例14の26歳であった. 症例2, 3および14の3例で, 筋生検を経時的に2回施行した. それぞれの生検時年齢は, 症例2が5ヵ月時および6歳時, 症例3が1歳3ヵ月時および7歳時, 症例14が16歳時および26歳時であった.

対象の性別は, 男児8例, 女児7例であった.

生後の運動発達状態の検討では, 頸定の時期は3ヵ月とほぼ正常から24ヵ月と著明な遅延を示す例まで認められた. 独立歩行の時期は, 1歳2ヵ月とほぼ正常の発達を示す例から6歳になってようやく可能となった例までであり, その時期は各対象でかなりの幅が認められた. 独立歩行不能の例は症例3の1例のみであった. 走行の可否に関しては, 13例中12例で可能であった. myotoniaの有無に関しては, 6歳以下の症例では, 認めないかあってもその程度は非常に弱かった. 7歳以上の症例では明らかな把握ミオトニア(grip myotonia)あるいは叩打ミオトニア(percussion myotonia)を認めた.

生下時の呼吸, 筋緊張の状態およびその後の運動発達の経過からCMyDの臨床型は次の3つの亜型に分類された. すなわち, 1)生下時の呼吸障害, hypotoniaが強く, 臨床症状が非常に重い重症型(severe type), 2)新生児期に軽度の臨床症状を認める軽症型(mild type), 3)新生児期にはほとんど症状が確認されないが, 経過と共に若年期になって臨床症状が徐々に出現してくる若年型(juvenile type)の3型である. この分類にしたがって自験例15例を検討するとsevere type 8例, mild type 5例, juvenile type 2例であった.

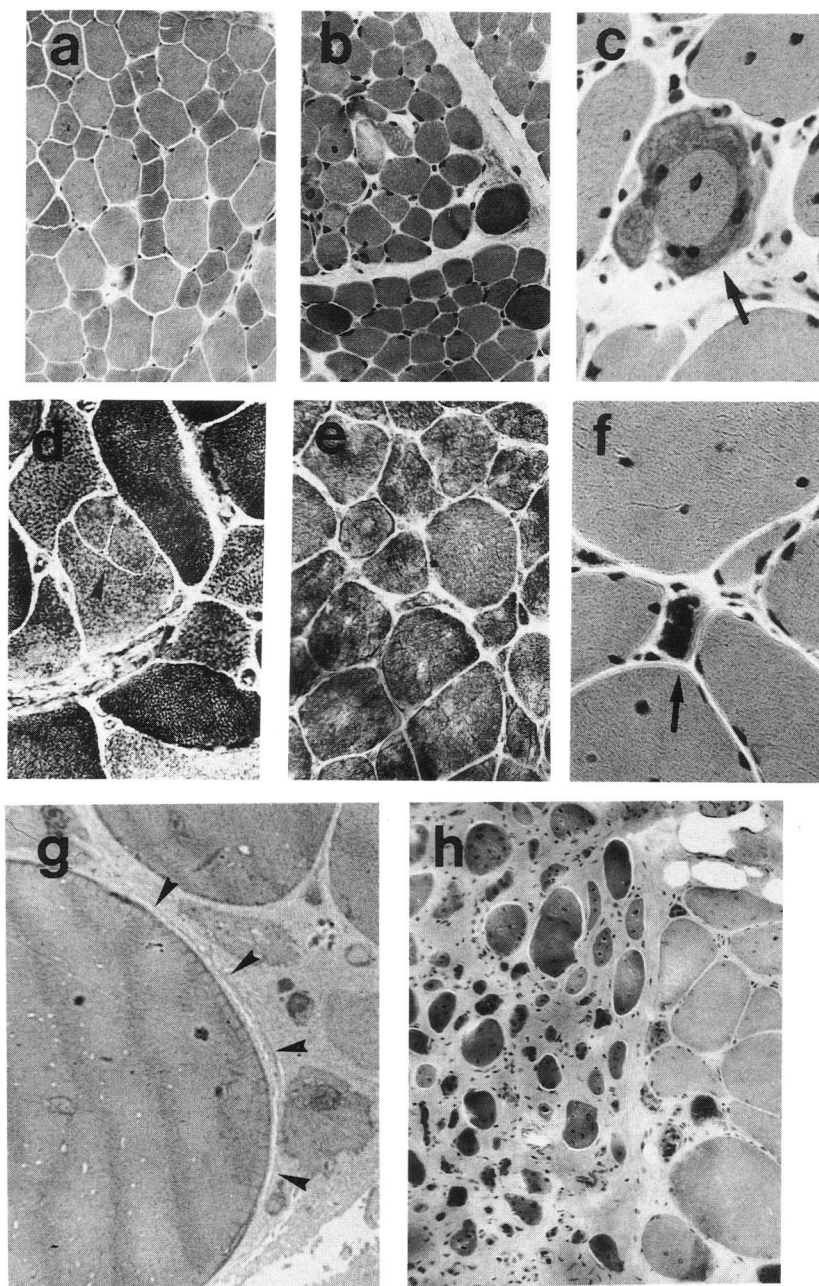


Fig. 1 Samples of various histopathological findings seen in patients with muscular diseases.

- a. fiber size variation (Case 6, H-E staining, $\times 200$)
- b. endomysial fibrosis (5yrs, Duchenne muscular dystrophy, H-E staining, $\times 200$)
- c. sarcoplasmic mass (arrow) (Case 14, H-E staining, $\times 400$)
- d. fiber splitting (arrow head) (Case 13, H-E staining, $\times 400$)
- e. moth-eaten appearance (Case 14, NADH-TR staining, $\times 300$)
- f. pyknotic nuclear clump (arrow), internal nuclei (Case 14, H-E staining, $\times 800$)
- g. ring fiber (Case 14, toluidine-blue staining, $\times 1200$)
- h. group atrophy (Case 13, H-E staining, $\times 200$)

Table 2 Summary of clinical findings in 15 patients with CMvD.

Case	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
age at biopsy	4mo	5mo 6yr	1yr3mo 7yr	3yr	3yr	5yr	6yr	7yr	7yr	9yr	14yr	15yr	16yr	16yr 26yr	17yr
sex	M	M	F	F	M	F	F	M	F	F	M	M	M	F	M
affected in family	mother's sister	mother's sister	mother's brother	mother elder sister	mother elder brother	mother younger sister	mother younger sister	mother's father	mother	mother?	mother's father	mother younger sister	father's brother	mother elder brothers	mother
pregnancy and delivery	n. p.	breach delivery	n. p.	hydramnios	n. p.	n. p.	hydramnios	n. p.	n. p.	n. p.	prolonged labor	n. p.	breach delivery cesarean section	placenta previa	n. p.
fetal movement	normal	weak	?	weak	?	?	weak	weak?	normal	?	weak	normal	?	?	normal
asphyxia	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
hypotonia at birth	#	#	#	+	+	+	+	-	?	+	?	-	-	+	?
swallowing difficulty during neonatal period	+	+	+	+	+	-	+	+	±	+	+	-	-	+	-
inverted V shape of upper lip	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
facial diplegia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+
talipes	-	?	+	?	+	-	+	?	?	?	since 11yrs marked	since 13yrs marked	-	?	?
head control	not achieved	24mo	14mo	5mo	5mo	3mo	5mo	4mo	4mo	5mo	7mo	3mo	3mo	12mo	4mo
walk alone	...	6yr	impossible	2yr5mo	1yr4mo	1yr3mo	1yr6mo	1yr5mo	1yr6mo	1yr6mo	1yr3mo	1yr4mo	1yr2mo	2yr4mo	1yr2mo
running	...	impossible	impossible	possible	possible	possible	possible	possible	possible	possible	possible	possible	possible	possible	possible
myotonia	-	±	±	±	-	±	±	+	+	+	+	+	+	+	±
cataracta	-	-	+	-	-	-	-	±	-	+	-	+	-	+	-
EMG	n. p.	n. p. M. D.	n. p. M. D.	?	?	M. D.	M. D.	M. D.	M. D.	M. D.	M. D.	M. D.	M. D.	M. D.	M. D.
IQ	?	retarded	retarded	retarded	retarded	78	retarded	74	80	41	retarded	66	44	retarded	64
CK (IU/l)	normal	173	208	normal	146	normal	normal	298	450	170~305	250	300~900	122	244	230
others	right diaphragm eventration			left squint	sternocleid pain	hypermetropia	hypermetropia		right hemiparesis		sensory deafness	ichthyosis arrhythmia	pylorus stenosis torticollis	supraventricular tachycardia	
classification	S	S	S	S	S	M	S	M	M	S	M	J	J	S	M

S=severe during neonatal period M. D.=myotonic discharge

M=mild

J=juvenile

3.2 各症例の筋組織の検討

対象中、筋組織の検索しえた最年少の症例は生後4カ月の乳児であった(症例1)。この症例の組織像では、H-E染色で筋線維径の大小不同を認める以外、種々の酵素染色によっても特に筋組織の未熟性などを示す所見は認めなかった。ATPase染色による組織化学的検索では、type 1 fiber が type 2 fiber より小径で、数において優位を示す先天性ミオパチーの一型である congenital fiber type disproportion (CFTD)^{15,16)} 類似の所見が認められた。症例2は、5カ月時と6歳時の2度、筋組織を検索しえた。初回光顕的には、H-E染色で筋線維径の大小不同を認めるのみであったが、2度目の組織像では、中心核の増加傾向および組織化学的に1型線維優位 (type 1 fiber predominance) が認められた。電顕的には、5カ月時、Farkasら⁹⁾の言う sarcoplasmic halo に類似の所見が確認されたが(Fig. 2)、6歳時の2度目の生検ではそのような所見は認めなかった。症例3は、1歳3カ月時と7歳時の2度組織像を検索しえた。この症例は、顎定14カ月で7歳時においても歩行不能と各対象中もっとも運動発達遅延の著しい患児であった。筋組織像は、1歳3カ月時に、そのような重度の臨床所見を反映し、筋線維径の大小不同、時に壊死線維、sarcoplasmic mass、ring fiberなどの強い変性の所見を認めた。しかし、この時点で中心核の増加は認めなかった。また電顕的には、glycogenの蓄積、空胞、satellite cellの増加などの所見を認めた。7歳時の所見は、1歳3カ月時と比較して、中心核の軽度増加を認める以外大きな差は認めず、成人型 MyD で認めるような強い変性は認めなかった。症例4から症例10、すなわち3歳から9歳までの若年の7症例における筋組織像の検索では、光顕上、軽度の中心核の増

加、大小不同、時に small angular fiber を認める以外、筋組織の構築は非常に良く保たれており、その変化は軽微であった(Fig. 3)。症例11、12は各々14歳、15歳の男児であり、臨床的に10歳を過ぎた頃より急速に尖足歩行が目立ち、前脛骨筋の著明な筋力低下を認めた。症例11の生検像では光顕的に、著明な筋線維径の大小不同、時に壊死線維、間質の肥厚、87%に及ぶ中心核の著明な増加、sarcoplasmic mass、ring fiber、fiber splitting、moth-eaten appearance、pyknotic nuclear clump、small angular fiber の所見を認めた。さらに特徴的な所見は、筋束単位での group atrophy であった(Fig. 4A)。また、ATPase染色にて94%におよぶ著明な type 1 fiber predominance を認めた。電顕的には軽度のグリコーゲンの蓄積および空胞化を示す線維を多数認めた。症例12の光顕像では、筋線維径の著明な大小不同、壊死線維、sarcoplasmic mass、ring fiber、fiber splitting、pyknotic nuclear clump、small angular fiber の所見を認め、さらに症例11同様、筋線維束単位での group atrophy およびATPase染色にて82%の type 1 fiber predominance を示した(Fig. 4B)。電顕的には、多数の空胞を持つ線維を時に認めた。症例13は、父親が成人型 MyD の患者で、著者の臨床所見による分類で juvenile type を示した症例である。光顕上、筋線維径の大小不同、軽度の線維径の大小不同、軽度の間質の肥厚、中心核の増加(20%)、時に、sarcoplasmic mass、fiber splitting、軽度の moth-eaten appearance、small angular fiber、83%の type 1 fiber predominance を認めた。電顕上、軽度のグリコーゲンの蓄積、空胞を持つ線維を認めた。症例14は臨床的に severe type に分類される患者であり、16歳時および26歳時にそれぞれ筋生検を

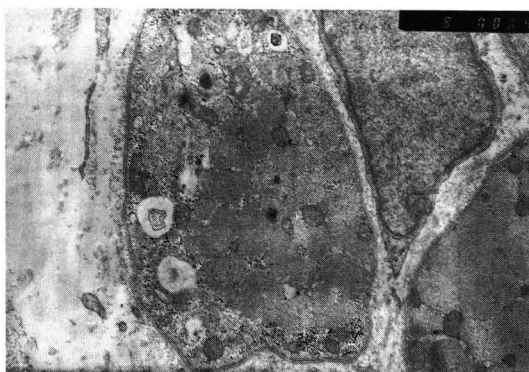


Fig. 2. Electron microscopic findings of the initial biopsy of Case 2. $\times 8400$
Sarcoplasmic halo was observed.

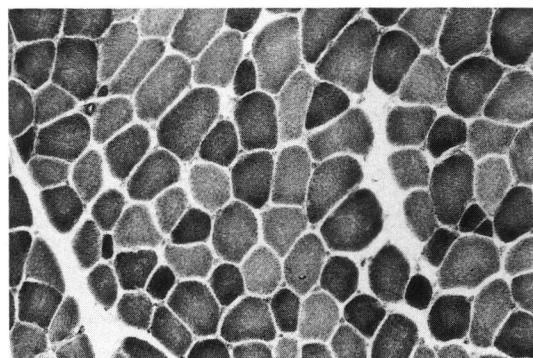


Fig. 3. Light microscopic findings of biopsied muscle of Case 8. NADH-TR staining $\times 400$.
The intermyofibrillar network was regular.

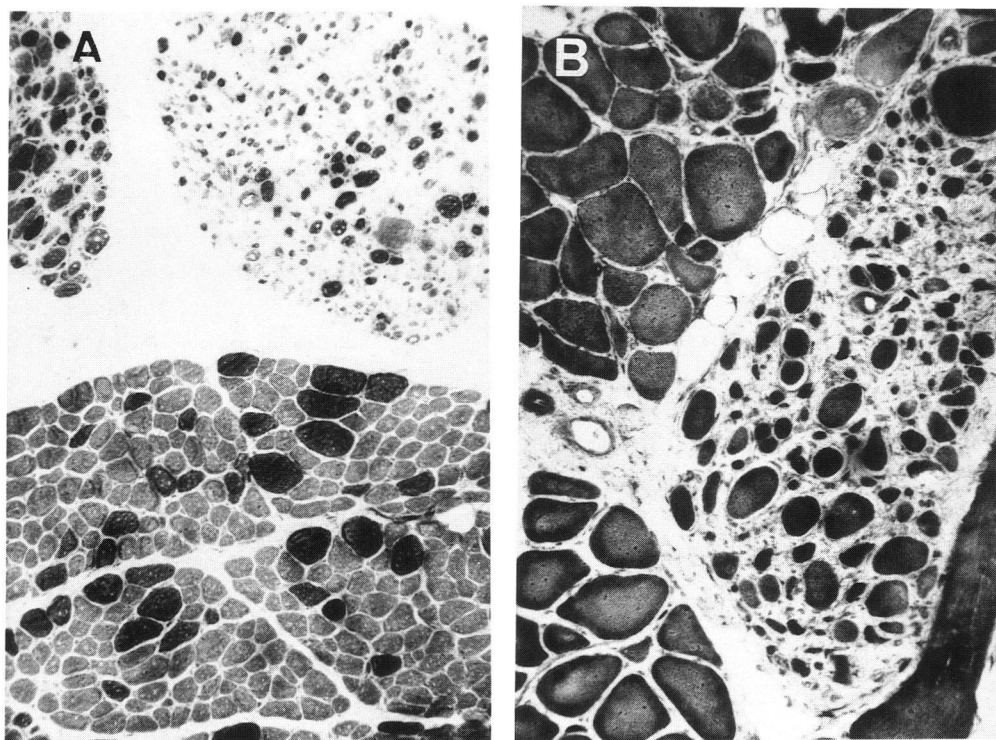


Fig. 4 Light microscopic findings of biopsied muscle of Cases 11 and 12.

A. Group atrophy was seen (Case 11, routine ATPase staining $\times 400$)

B. Group atrophy and fiber size variation were remarkable (Case 12. NADH-TR staining $\times 400$)

施行した。16歳時における1回目の生検筋の組織像は、軽度の間質の肥厚、中心核の増加、fiber splitting、時に small angular fiber、軽度の moth-eaten appearance などの軽度の変性を認めたが、その基本構築は比較的良好に保たれていた。しかし、26歳時の第2回目の組織像は、著明な線維径の大小不同、間質の肥厚、70%に及ぶ中心核の増加、sarcoplasmic mass, ring fiber, moth-eaten appearance、時に渦巻き状線維 (whorled fiber)、pyknotic nuclear clump, small angular fiber の増加など、ほぼ成人型 MyD で報告されている組織像と同様の特徴を有していた (Fig. 5)。電顕的にも第1回目の生検像と比較して、第2回目のそれは、グリコーゲンの蓄積および sarcoplasmic reticulum の拡張と思われる空胞の増加の程度が強くなっていた。17歳の症例15は臨床的に mild type を示した患者であった。筋組織像は、光顕的に軽度の大小不同、時に pyknotic nuclear clump, small angular fiber を示すのみで、基本構築はほぼ保たれていたが、ATPase 染色にて80%におよぶ著明な type 2 fiber predominance を認めた (Fig. 6)。以上、各症例の生検

筋の組織像の所見のまとめを Table 3 に示した。

3.3 タイプ別筋線維径の検討

正確に直径ヒストグラムを作製しえた8例の検討では、80%を越える著明な type 1 fiber predominance を6例に認め、全例、type 1 fiber は type 2 fiber よりも

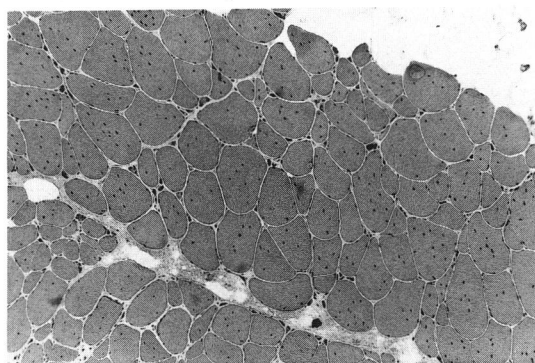


Fig. 5 Light microscopic findings of the second biopsy of Case 14. (26yrs, H-E staining, $\times 400$) Fiber size variation, central nuclei, pyknotic nuclear clumps and small angular fibers were observed.

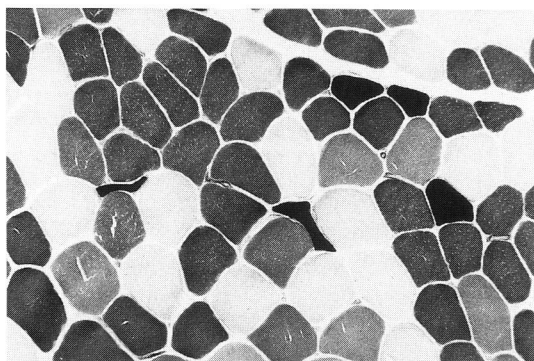


Fig. 6 ATPase staining showed remarkable type 2 fiber predominance. Type 1 fibers appeared small angular fibers.

(Case 15, ATPase staining pH 4.6, $\times 400$)

小径であった。Brooke ら¹⁷⁾が報告した年齢別の平均線維径と比較すると、1型線維萎縮 (type 1 fiber atrophy) を6例に、2型線維肥大 (type 2 fiber hypertrophy) を3例に認めた。Type 2C fiber は今回の自験例

ではほとんど認めなかった。

4 考 察

4.1 CMyDの臨床像に関しての考察

CMyDの臨床像は成人型 MyD のそれとはかなり異なっており、多くの場合、生下時あるいは新生児期に特徴的な臨床徴候が認められる¹⁻⁶⁾。主要な臨床所見としては、吸啜障害、嚥下障害を伴う hypotonia、高度の呼吸障害、横隔膜の挙上などであり、また著明な顔面罹患が認められるため、口唇は逆V字状を呈し、目は十分に閉じないことが多く、彎曲足 (clubbed foot) もしばしば認められる。患児の母親はほとんど常に成人型 MyD に罹患しており、妊娠中、羊水過多 (hydramnios) を合併する頻度が高く、また母親が胎動の微弱に気付いていることもある。精神発達遅滞は通常ほぼ全例に認めるが、明確な myotonia は多くの場合2歳以前には認めないとされている。Harper ら⁵⁾は、CMyD の myotonia は年齢と共に出現頻度が増し、1歳以下では0%、1~5歳で12%、6~10歳で75%、11

Table 3 Summary of pathological findings of biopsied muscles in 15 patients with CMyD

Case	1	2*		3*		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14*		15
age at biopsy	4mo	5mo	6yr	1yr3mo	7yr	3yr	3yr	5yr	6yr	7yr	7yr	9yr	14yr	15yr	16yr	16yr	26yr	17yr
sex	M	M		F		F	M	F	F	M	F	F	M	M	M	F		M
fiber size variation	++	+	+	+	++	+	-	+	+	+	+	+	+++	++	++	+	++	+
endomysial fibrosis	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	++	+	+	++	-
sarcoplasmic mass	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-
fiber splitting	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	++	-
moth-eaten appearance	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
group atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-
necrosis (%)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5	4	0	0	2	0
central nuclei (%)	0	0	3	0	10	0	0	3	0	5	0	3	87	21	22	62	70	4
acid phosphatase																		
positive sites (%)	ND	ND	0	ND	0	ND	ND	0	ND	0	ND	ND	0	0	0	ND	0	0
pyknotic nuclear clumps (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	4	0
small angular fibers (%)	5	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	25	12	3	4	28	3
type 1 fiber (%)	55	ND	86	ND	76	40	55	86	75	61	70	82	94	82	83	ND	49	20
ring fiber (%)	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	4	0
sarcoplasmic halo	-	+		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glycogen deposition	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	++	+
vacuoles	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
micro-core tubules	ND	ND	-	ND	-	ND	ND	-	-	-	ND	ND	ND	-	-	ND	-	-
satellite cells	n	n	n	7%	n	n	n	ND	n	n	n	n	ND	n	n	ND	n	n

- ; absent + ; mild, ++ ; moderate, +++ ; severe

ND ; not detected. n ; normal, * indicates cases recieved two muscle biopsies

歳以上で100%認めたと報告している。一方、EMGでのmyotonic dischargeを臨床所見が出現する前に認めたとの報告もある¹⁸⁾。今回の自験例では、5歳以上の症例全例にEMGにて明確なmyotonic dischargeが確認された。

新生時期に重篤な呼吸不全で死亡する例もあるが、このような呼吸不全状態を乗り切った児は、その後の2,3カ月のうちに徐々にではあるが、筋力の改善を認めるようになる。著者の自験例においても、新生時期に仮死、哺乳障害を出生直後に多数認めたが、ほとんどの症例が成長とともに独歩および走行が可能となった。

一般にMyDの臨床像について検討される場合、大きく成人型MyDとCMyDに分類されており^{1,19)}、生下時発症のものは、CMyDとして一括されているが、成人型MyDにおいて臨床症状に軽重があるように、CMyDにおいても各症例によって臨床像の軽重にかなりの差を認める。著者は、生下時の状態およびその後の経過よりCMyDを便宜上、結果3.1に示した3つの亜型に分類したが、各型の間に明確な境界線はなく、各型の間の移行型も存在すると思われる。しかし、CMyDの患児の生下時あるいは新生時期の状態をその臨床像の軽重からこのように分類しておくことは、その後の運動発達を検討する上で有用と思われる。事実、新生時期にsevere typeに分類された患児はその他の児と比較して、独歩が遅れる、走行不能などの傾向があり、強い発達の遅れを初期に示した。

4.2 CMyDの筋組織像についての考察

MyDの筋組織像に関する報告は既に種々認められる。その多くは成人型MyDに関するものであり、特徴的な所見として、光顕的にはcentral nucleiの増加、核の鎖状配列(nuclear chain)、ring fiber、sarcoplasmic mass、type 1 fiber atrophy、筋紡錘におけるfiber splitting、small angular fiber、moth-eaten appearance、type 2 fiber hypertrophy、fibrosisの増加、ミトコンドリアが集積し、赤染しぼろぼろに見える線維(ragged-red fiber)の出現²⁰⁾などがあげられている²¹⁾。電顕的には、筋形質横管小胞体系(sarcotubular system)の拡張、ミトコンドリアの異常、Z帯(Z band)の蛇行および流れたように見える所見(Z streaming)、satellite cellの増加、Golgi体の増加、ネマリン小体(nemaline rod)様構造物の形成、筋原線維(myofibril)の不規則な走行、変性、消失、筋鞘膜下の膜様構造物、横管(transverse tubule)由来と思われる蜂巢状構造、脂肪滴の集簇、リポフスチンの増加、ライソゾーム様構造物、グリコーゲン顆粒の集積または

減少、筋鞘核膜の著明な湾入、基底膜(basement membrane)の重複化⁷⁾などが認められる²¹⁾。

一方、生下時より著明なhypotoniaを呈するCMyDの新生時期あるいは乳児早期の筋組織像は、上記の成人型MyDの所見とかなり異なっている。現在まで報告されているCMyDの組織所見を総括すると次のようになる。筋線維の小径化、線維径の大小不同、筋線維周囲の暈輪の存在、type 2 fiber predominance、大きな小胞様の内核を有する円い小径線維の存在、不完全な線維型の分化、type 2C fiberの増加、光顕レベルの細胞周囲の暈輪に一致すると思われ、ミトコンドリアの酸化酵素の活性が欠けているsarcoplasmic haloの存在、胎児筋管様線維の存在、不完全なZ帯の存在、横管の拡張などの所見が報告されている^{9-11,16,22,23)}。これらの病理学的特徴より、CMyDにおける出生直後の筋組織像は、胎生筋の成長、分化の遅れあるいは停止に基づく未熟性がその主要所見とされている。また、Karpatiら²⁴⁾の若年のCMyDの組織像の検索によると、頻度は少ないが時に成人型MyDで認められるring fiber、sarcoplasmic massが若年のCMyDでも認めることがあるとしている。さらに、4歳以下の幼児のCMyDでは、acid phosphataseに濃染する部分がある線維を認め、これは電顕的に核近傍の高密度の芯様細管(micro-core tubule)に一致し、CMyDの病因に関係することを示唆している。最近、Iannacconeら²²⁾は、Karpatiら²⁴⁾が示したこのようなacid phosphatase活性の高い部分は、電顕的にはゴルジ体集積部位に一致していると報告している。Argovら¹⁶⁾は、若年のCMyDの筋組織を検索し、2B型線維欠損、CFTD類似の所見を認め、筋発達段階における神経栄養効果(neural trophic influence)の障害を示唆した。自験例では、新生時期には筋生検を施行しえた症例がないため、この時期に従来より報告されている筋組織の未熟性を確認しえなかった。しかし、症例2の5カ月時の筋組織で、sarcoplasmic haloを思わせる所見を認め、また症例1(4カ月)ではCFTD類似の所見を認め、さらに症例3の1歳3カ月時では、電顕的にsatellite cellの増加を認めた。自験例におけるこれら乳幼児のCMyDの筋組織像は、筋組織の未熟性やneural trophic influenceの障害の一端を窺わせる所見かもしれない。

自験例中、とりわけ3歳から9歳の7例の若年のCMyDにおける筋組織像では、組織の未熟性を示す所見はほとんど認めず、基本構造が良く保たれていた。また、成人型MyDで報告されているような特徴的な所見

に乏しく、かつ変性所見が少ない傾向が認められた。今回、若年の CMyD で認めたこのような所見は、新生児期、乳児早期で報告されている未熟な筋組織が、その後の成長とともにある程度まで発達を獲得することを示し、幼児期、学童期に認めるある程度の運動能力の発達を裏付ける所見と推定された。

一方、14 歳から 16 歳の思春期の CMyD の筋組織像では、症例により程度の差はあるが、徐々に成人型 MyD で見られる組織像の特徴を有する傾向が認められた。さらに、成人（症例 14, 26 歳）の CMyD の筋組織像では、成人型 MyD と同様の筋組織の特徴を有する所見が認められた。以上の所見より、CMyD の筋組織は、新生児期で認める未熟な状態から乳幼児期、学童期にある程度発達し、おそらく思春期前後より成人型 MyD と同様の様式で変性し始める可能性が示唆された。

2 度筋生検を施行した 3 例に関して、それぞれ乳幼児期と学童期に生検した症例 2 と 3 では、中心核の増加、fiber size variation の増加などの点で変化を認めたに過ぎず、成人型 MyD で認めるような強い変性所見への移行は認めなかった。思春期と成人期に生検した症例 14 では前述のような明らかな変性所見への移行を認め、他の例における加齢と組織像との関係とはほぼ同様の傾向を示した。

組織化学的検索を施行しえた症例、15 例中 9 例で 70% を越える type 1 fiber predominance を認めた。逆に症例 15 (17 歳男性) では、著明な type 2 fiber predominance (80%) を認めた。Johnson ら²⁵⁾ による剖検筋での成績によると正常の前脛骨筋では、type 1 fiber の占める比率の平均は、73.4% としており、自験例で type 1 fiber predominance を高頻度にした理由として前脛骨筋を生検筋に使用したことも一因と思われる。しかし、自験例では、年齢とともに type 1 fiber predominance の傾向が強まることより、この所見は、病期の進行に伴う neural trophic influence の変化を示唆し、かつ、筋組織の変性進行の程度を反映する病理像である可能性も考えられる。

症例 11 と症例 12 の 2 例で、経過中、尖足による歩行障害が比較的急速に出現した。このような著明な尖足は、下腿伸筋群の強い萎縮によるものと思われる。前脛骨筋の組織像では、両症例ともに、脊髄病変を思わせるような筋束単位での group atrophy を認めた。一般に、group atrophy の存在は脱神経の特有的所見と言われている²⁶⁾。また、症例 14 のように、MyD では small angular fiber, pyknotic nuclear clump を認め

る症例も多く、さらに末梢神経伝導速度の異常を認めたとの報告²⁷⁾、剖検で脊髄前根レベルに異常を認めたとの報告²⁸⁾ もあることから、本症の筋変性には、本来持つ筋原性変化に加えて、何らかの神経系の要素が存在している可能性がある。また、自験 2 例で認めたこのような group atrophy の所見は、CMyD の進行に伴い脊髄レベルにまで病変が及ぶ場合のあることを示すものかもしれない。

CMyD では、筋緊張低下の著しい新生時期に証明されている四肢筋の組織の未熟性に加えて、肋間筋、横隔膜でも、その低形成、未熟さが証明されている²⁹⁾。出生直後に認める著明な呼吸障害は、このような所見に起因するものと考えられている。CMyD で認める呼吸障害も、四肢筋の著しい筋緊張低下同様乳幼児期には徐々に改善傾向を示すものが多いことから、これらの筋の組織も、著者が示した若年の CMyD の四肢の筋組織像と同様に、その初期には未熟であるにもかかわらず、ある程度の発達を獲得することが予想された。

5 結 論

CMyD15 例の筋組織像および臨床像について検索し、その関連について経時的に検討し、以下の知見を得た。

- 1) CMyD では、症例により臨床像の軽重に差があり、新生時期の状態およびその後の発達の経過より、3 つの subtype に分けられた。CMyD において生下時あるいは新生時期の状態をこのように分類し、把握しておくことは、その後の運動発達を評価するうえで有用と思われた。
- 2) CMyD において新生時期に認める四肢の著しい筋緊張低下の状態は、骨格筋組織の低形成、未熟性の反映と推定された。
- 3) 若年患者で、筋組織の変化が少ないことは、乳児早期に認める未熟な筋組織が、その後の成長とともにある程度まで発達することを示し、幼児期、学童期に認めるある程度の運動能力の発達を裏付ける所見と思われた。
- 4) CMyD では、一度未熟な状態から幼児期、学童期にある程度発達した筋組織は、思春期前後より成人型 MyD と同様の様式で変性し始め、その後成人型 MyD 類似の筋組織所見を呈することが明らかになった。
- 5) 臨床的な myotonia は、多くは 3 歳頃より徐々に顕れ始め、比較的筋力の充実した 7 歳以上の症例では、全例、明確な myotonia が認められた。
- 6) 2 症例で経過中、尖足による歩行障害が比較的急

速に出現した。これらの症例では、筋組織に group atrophy を認め、CMyD の経過中に脊髄病変が出現する可能性が示唆された。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました札幌医科大学小児科学講座、千葉峻三教授ならびに国立療養所八雲病院院長、南 良二博士に深く感謝の意を表します。また、多大なる御助言をいただきました市立函館保健所所長、篠田 実博士ならびに札幌医科大学小児科学講座、館 延忠講師に深謝いたします。

また、研究に御協力いただいた国立療養所八雲病院の医局、検査科および病棟のスタッフ一同に心より感謝の意を表します。

文 献

- Roses, A. D., Harper, P. S. and Bossen, E. H.: Myotonic muscular dystrophy. In: Vinken, R. J. and Bruyn, J. W.: Handbook of clinical neurology 40. 485-532, Elsevier/North-Holland biochemical press, Amsterdam (1979).
- Vanier, T. M.: Dystrophia myotonica in childhood. *Brit. Med. J.* 2, 1284-1288 (1960).
- Dyken, P. R. and Harper, P. S.: Congenital dystrophia myotonica. *Neurology* 23, 465-473 (1973).
- Watters, G. V. and Williams, T. W.: Early onset myotonic dystrophy: clinical and laboratory findings in 5 families and a review of the literature. *Arch. Neurol. (Chic.)* 17, 137-152 (1967).
- Harper, P. S.: Congenital myotonic dystrophy in Britain. I. Clinical aspects. *Arch. Dis. Child.* 50, 505-513 (1975).
- Harper, P. S.: Congenital myotonic dystrophy in Britain. II. Genetic basis. *Arch. Dis. Child.* 50, 514-521 (1975).
- Casanova, G. and Jerusalem, F.: Myopathology of myotonic dystrophy. A morphometric study. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 45, 231-240 (1979).
- Mussini, I., DiMauro, S. and Angelini, C.: Early ultrastructural and biochemical changes in muscle in dystrophia myotonica. *J. Neurol. Sci.* 10, 585-604 (1970).
- Farkas, E., Tome, F. M. S., Fardeau, M., Arsenio-Nunes, M. L., Dreyfus, P. and Diebler, M. F.: Histochemical and ultrastructural study of muscle biopsies in 3 cases of Dystrophia Myotonica in the newborn child. *J. Neurol. Sci.* 21, 273-288 (1974).
- Sarnat, H. B. and Silbert, S. W.: Maturation arrest of fetal muscle in neonatal myotonic dystrophy: A pathological study of four cases. *Arch. Neurol.* 33, 466-474 (1976).
- Farkas-Bargeton, E., Barbet, J. P., Dancea, S., Wehrle, R., Checoury, A. and Dulac, O.: Immaturity of muscle fibers in the congenital form of myotonic dystrophy: its consequences and its origin. *J. Neurol. Sci.* 83, 145-159 (1988).
- Dubowitz, V.: The procedure of muscle biopsy. In: Dobowitz, V.: Muscle biopsy. A practical approach. 2nd ed. 3-18, W. B. Saunders, London (1985).
- 埜中征哉: 筋病理組織標本の作り方. 臨床のための筋病理入門. 10-21. 日本医事新報社, 東京 (1987).
- 日本電子顕微鏡学会関東支部編: 電子顕微鏡観察法. 丸善, 東京 (1982).
- Brook, M. H.: Congenital fiber type disproportion. In: Kakulas, B. A.: Clinical studies in myology, proceeding of the second international congress on muscle diseases. 147-159. Excerpta Medica, Amsterdam (1971).
- Argov, Z., Gardner-Medwin, D., Johnson, M. A. and Mastaglia, F. L.: Congenital myotonic dystrophy: Fiber type abnormalities in two cases. *Arch. Neurol.* 37, 693-696 (1980).
- Brook, M. H. and Engel, W. K.: The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types. 4. Children's biopsies. *Neurology* 19, 591-599 (1969).
- Swift, T. R., Ignacio, O. J. and Dyken, P. R.: Neonatal dystrophia myotonica: Electrophysiologic studies. *Am. J. Dis. Child.* 129, 734-737 (1974).
- Harper, P. S.: The myotonic disorders. In: Walton, J.: Disorders of voluntary muscle. 5th ed, 569-587, Churchill Livingstone, New York (1988).
- Ono, S., Kurisaki, H., Inoue, K. and Mannen, T.: "Ragged-red" fibers in myotonic dystrophy. *J. Neurol. Sci.* 74, 247-255 (1986).
- 村上俊一: 筋緊張性ジストロフィー症. 臨床と病理 5, 288-295 (1987).
- Iannaccone, S. T., Bove, K. E., Vogler, C., Azzarelli, B. and Muller, J.: Muscle maturation delay in infantile myotonic dystrophy. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 110, 405-411 (1986).
- Tanabe, Y. and Nonaka, I.: Congenital

- myotonic dystrophy: Changes in muscle pathology with aging. **J. Neurol. Sci.** **77**, 59-68 (1987).
24. Karpatis, G., Carpenter, S., Watters, G. V., Eisen, A. A. and Andermann, F.: Infantile myotonic dystrophy: Histochemical and electron microscopic features in skeletal muscle. **Neurology** **23**, 1066-1077 (1973).
25. Johnson, M. A., Polger, J., Weightman, D. and Appleton, D.: Data on the distribution of fiber types in thirtysix human muscles: An autopsy study. **J. Neurol. Sci.** **18**, 111-129 (1973).
26. Dorman, J. D.: The histopathology of neurogenic muscular atrophy. In: Pearson, C. M. and Mostofi, F. K.: The striated muscle. 249-262, Williams & Wilkins, Baltimore (1973).
27. 中野省三, 北条博厚, 片岡健吉: 筋強直性ジストロフィー症—2家系6症例の臨床像並びに電気生理学的知見について—. **脳と発達** **13**, 11-18 (1981).
28. 臼井康臣, 向山昌邦: 筋緊張性ジストロフィーの1剖検例——とくに脊髄根病変について——. **神経内科** **27**, 276-284 (1987).
29. Bossen, E. H., Shelburne, J. D., Durham, N. C., Barry, M. A. J. and Bragg, F.: Respiratory muscle involvement in infantile myotonic dystrophy. **Arch. Pathol.** **97**, 250-252 (1974).
-
- 別刷請求先:
(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目
札幌医科大学小児科学講座 若井周治